

ヒメウコギの葉に含まれる無機成分の濃度分布と季節変化

志 田 惇 一 ・ 遠 藤 昌 敏 ・ 水 口 仁 志 ・ 萬 崎 裕 子
奥 山 奈 美 子 ・ 高 橋 憲 司 ・ 石 川 明 日 香 ・ 坂 倉 愛 子
中 沢 弘 美 ・ 村 椿 由 希 子

山形大学工学部物質化学工学科

Distributions and Seasonal Changes of Inorganic Constituents in *Acanthopanax sieboldianus* Makino Leaves

Junichi Shida, Masatoshi Endo, Hitoshi Mizuguchi, Namiko Okuyama, Kenji Takahashi,
Asuka Ishikawa, Aiko Sakakura, Hiromi Nakazawa and Yukiko Muratsubaki

Department of Chemistry and Chemical Engineering, Faculty of Engineering

(平成18年9月15日受理)

Abstract

In order to investigate the amounts of mineral and others in *Acanthopanax sieboldianus* Makino leaves every season, Mg, Al, K, Ca, Mn, Fe, Zn, Sr, Ba and vitamin C were determined by ICP-AES and HPLC. The results were as follows: 1) The amounts of each element in the leaves belong to the lower position are larger comparing with in than those belong to the upper position; 2) The amounts of Ca, Sr and Ba in leaves increase as the time proceeds; 3) The mean atmospheric temperature have effects upon the amounts of Mg and Fe; 4) In regard to six elements except Ca, Sr and Ba, the amounts of them in leaves collected in May are larger than ones in June; 5) It was found that a linear relationship between the amount of Mn and vitamin C in leaves collected in May to September was obtained; 6) The extractability of Mg and Ca into water (80°C) from powder leaves were 86% and 63%, respectively.

1. はじめに

近年、ウコギは抗酸化性を有する健康食品として注目され、それらの効用が盛んに研究されているが、ポリフェノール類などの有機成分に関する研究が中心となっている¹⁾。最近、ミネラルやビタミンCの補給食材としても有用であり、とくに無機成分の動態について詳細に研究している報告例は少ない。

ヒメウコギは、双子葉植物離弁花類のウコギ科に属す中国原産の落葉低木である²⁾。平安時代より漢方の強壯剤として使われ、山形県置賜地方

ではとくに江戸時代米沢藩九代藩主上杉鷹山公はウコギの垣根を奨励した。古くから救荒作物としての価値が高く、人家に植栽し、生垣とされてきた。茎は群生し高さ2 mに達し、葉は長枝に互生し長さ3～10 cmで掌のような形をしている。若芽は食用とされ、根は薬用とされる。薬用効果の高い朝鮮人参や山菜として馴染みの深いウドなども同じウコギ科の植物である。

当研究室では、1998年からヒメウコギの葉を対象とした植物と環境ストレスとの影響について無機成分の変化を追跡してきた。その結果、環境変

化や季節変化に対応しながら、植物体内に吸収されて生命維持に利用される成分、蓄積される成分、排出される成分などくに主要元素の特徴についての知見が得られた^{3~5)}。

本報告は2002年から2005年までの4年間に採取したヒメウコギ葉中の9元素の全含有量を乾式灰化分解法—プラズマ発光分析装置(ICP-AES)を用いて測定し、季節変化による無機成分濃度の挙動を考察した。一方、健康食品の観点から、ウコギには抗酸化性の高いビタミンCが他の植物に比べて豊富であることが知られているので、ビタミンCについても高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によって定量し、金属イオン濃度との関連性を検討した。さらに、ヒメウコギの葉を抹茶として利用するための抽出条件についても考察した。

2. 実験

2-1 ヒメウコギの葉の採取方法

ヒメウコギの葉は、山形県米沢市内に生息しているものを用い、ここでは2002年5月から2005年10月までの月初めに毎月1回採取したものを試料として用いた。

ヒメウコギの葉が根からの高さの違いによって含まれる無機成分濃度の分布を検討するため、木の上部の葉(木の先端から10cm程度までの葉)、地表近くの下部の葉(最も下位にある葉から10cm程度上にある葉)とその中間部の葉を無作為に選り取った。

2-2 粉末試料の調製

採取した葉を純水で表面の砂や埃を洗い流したあと、電子レンジで2分ほど乾燥させ、ボールミルで粉碎した。粉碎した葉を85℃で4時間乾燥後、粉末試料とした⁶⁾。

以上の方法で粉末試料とした植物試料は、紫外線を遮断するデシケーター内で保存し、実験の直前にもう一度85℃で4時間乾燥させた。このときの重さを基本重量として金属含有量を算出した。

2-3 ICP-AESによる金属元素の分析

粉末試料の0.5gを白金るつぼ中で灰化(450℃, 24hr)し、王水1mℓを加えながらテフロンピーカーに移し、加熱分解して蒸発乾固した。さらに、王水1mℓを加えて加熱分解-蒸発乾固し

た。この操作を4回繰り返した。その後、フッ化水素酸1mℓを加えて加熱、乾固した。最後に5%塩酸を加えて残留物を溶解し、孔径0.45μmのメンブランフィルターで吸引ろ過した。ろ液と水による洗浄液を合せて、全量100mℓの試料溶液とした。この試料溶液を適宜希釈してICP-AESによってマグネシウム、アルミニウム、カリウム、カルシウム、マンガン、鉄、亜鉛、ストロンチウム、バリウムの9元素を測定した。

2-4 ビタミンCの抽出とHPLCによる定量

上部、中部、下部から採取してきたヒメウコギの生葉をそれぞれ1gずつはかりとり、それらを合せて試料とした。これをポリエチレン容器に移し、5%メタリン酸溶液150mℓを加え、ホモジナイザーで摩砕抽出した。さらに5%メタリン酸溶液100mℓを加え、摩砕抽出を繰り返し、それぞれの抽出液を合せて全容を250mℓにした。その後、遠心分離(3000rpm)を5分間行い、孔径0.45μmのメンブランフィルターで吸引ろ過した。ろ液を共栓付試験管に1mℓ分取し、0.2%インドフェノール溶液を2, 3滴加え、さらに2%チオ尿素-メタリン酸溶液5mℓと2%2,4-ジニトロフェニルヒドラジン-4.5M硫酸溶液1mℓを加えて混和した。試験管に栓をして50℃で1.5時間加温し、室温まで冷却した後、酢酸エチル5mℓを加えて1時間振り混ぜた。遠心分離を5分間行い酢酸エチル層をHPLCで測定した。測定条件は移動相の流速1mℓ/min, 温度は室温, 波長495nmである。ビタミンCの含有量は葉の乾燥重量1g当りのmg数で表した。

2-5 無機成分の水への抽出実験

ヒメウコギの粉末試料1gを80℃の水100mℓに加えて攪拌した。10分間静置後、孔径0.45μmのメンブランフィルターを用いて吸引ろ過した。ろ液を放冷後、ICP-AESで9元素を定量した。

2-6 使用装置, 器具および試薬

- ・プラズマ発光分析装置: 島津シーケンシャル形プラズマ発光分析装置(ICPS-7000)
- ・高速液体クロマトグラフ: ポンプ; 島津LC-6A, 検出器; 島津SPD-6AV, クロマトパック; 島津CR-6A, カラム; shodex 5SIL-4D
- ・小型ボールミル粉碎機: アサヒ理化製作所AV-1

- ・乾燥器：東洋科学産業株式会社TS-4S型
- ・電気炉：カーボライト社 東洋科学産業株式会社製ESF-3-EPL型
- ・フィルターホルダー：アドバンテック東洋株式会社製KG-25型フィルター（ろ過面積 2.1cm^2 ）
- ・メンブランフィルター：アドバンテック東洋株式会社製セルロース混合エステル製（孔径 $0.45\mu\text{m}$ ，直径 25mm ）

なお，試料の分解，抽出および測定に使用した試薬はすべて特級試薬を用いた．水はMilli-Qシステム（日本ミリポア）に通したもの（比抵抗 $13.5\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 以上）を使用した．

3. 結果および考察

3-1 気象条件

2002年から2005年まで，月ごとの降水量，平均気温，日照時間を図1～3に示した．採取日は5月から10月の月初めであるが，植物が影響を受けるのはそれらの前月の気象条件であることを想定して4月から9月のデータを調べて考察した．

3-2 無機成分濃度の経月変化

2-3節で述べたように，ヒメウコギの葉に含まれる9元素の含有量を採取した葉の部位ごとに測定した．例として2005年の9元素の定量結果を元素ごとに図4に示した．さらに，上，中，下の部位を平均した値を用いて4年間の元素ごとの経月変化を図5に示した．

図4において，含有量を上部，中部，下部の部位別にみると，全体的に下部ほど多く含まれていることが観測された．この傾向は2002年，2003年，2004年においても同様であった．

また，図5から明らかのように，ヒメウコギの葉に含まれる元素ごとの含有量の経月変化は毎年ほぼ類似した傾向にあることが分かった．さらに，詳細に考察すると，それぞれの元素は次のような挙動を示すことが推定された．

- (1) カルシウム，ストロンチウムおよびバリウムの含有量は4年間とも月を追うごとに増加している．これらの元素は，葉の生長とともに蓄積する元素であることが認められた．
- (2) マグネシウムと鉄については平均気温が含有量に影響を与えていることが観測された．4月から平均気温が上昇するとともに両元素の含有

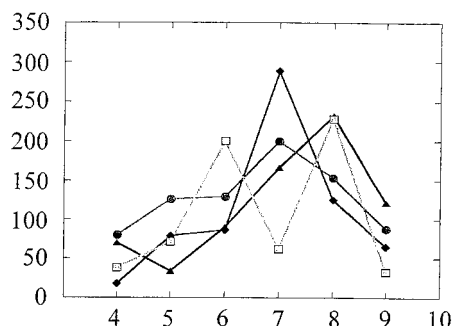


図1 月別総降水量

縦軸：降水量[mm]，横軸：月[月]

◆：2002年；▲：2003年；●：2004年；■：2005年

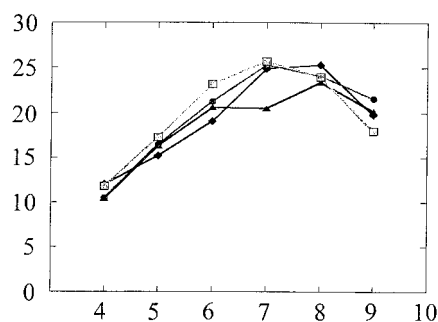


図2 月別平均気温

縦軸：気温[°C]，横軸：月[月]

◆：2002年；▲：2003年；●：2004年；■：2005年

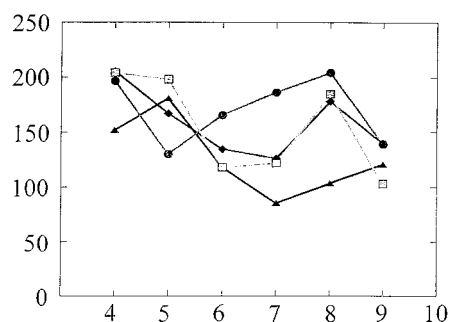


図3 月別総日照時間

縦軸：時間[hr]，横軸：月[月]

◆：2002年；▲：2003年；●：2004年；■：2005年

量はそれぞれ徐々に減少し，気温の下がる9月の翌月にはそれらの含有量は前月に比べ増加している．

- (3) アルミニウムは年によって傾向が異なり，共通した特徴は見られない．
- (4) カリウムは5月の新芽の時期に最も高い値となっているが，6月以降はほぼ一定の濃度を保っている．カリウムは液胞に多量に存在して，細胞の浸透圧の調節を通じて，気孔の開閉運動に関係し，十分に存在することによって，病害虫への抵抗性が増大し，開花結実を促進するこ

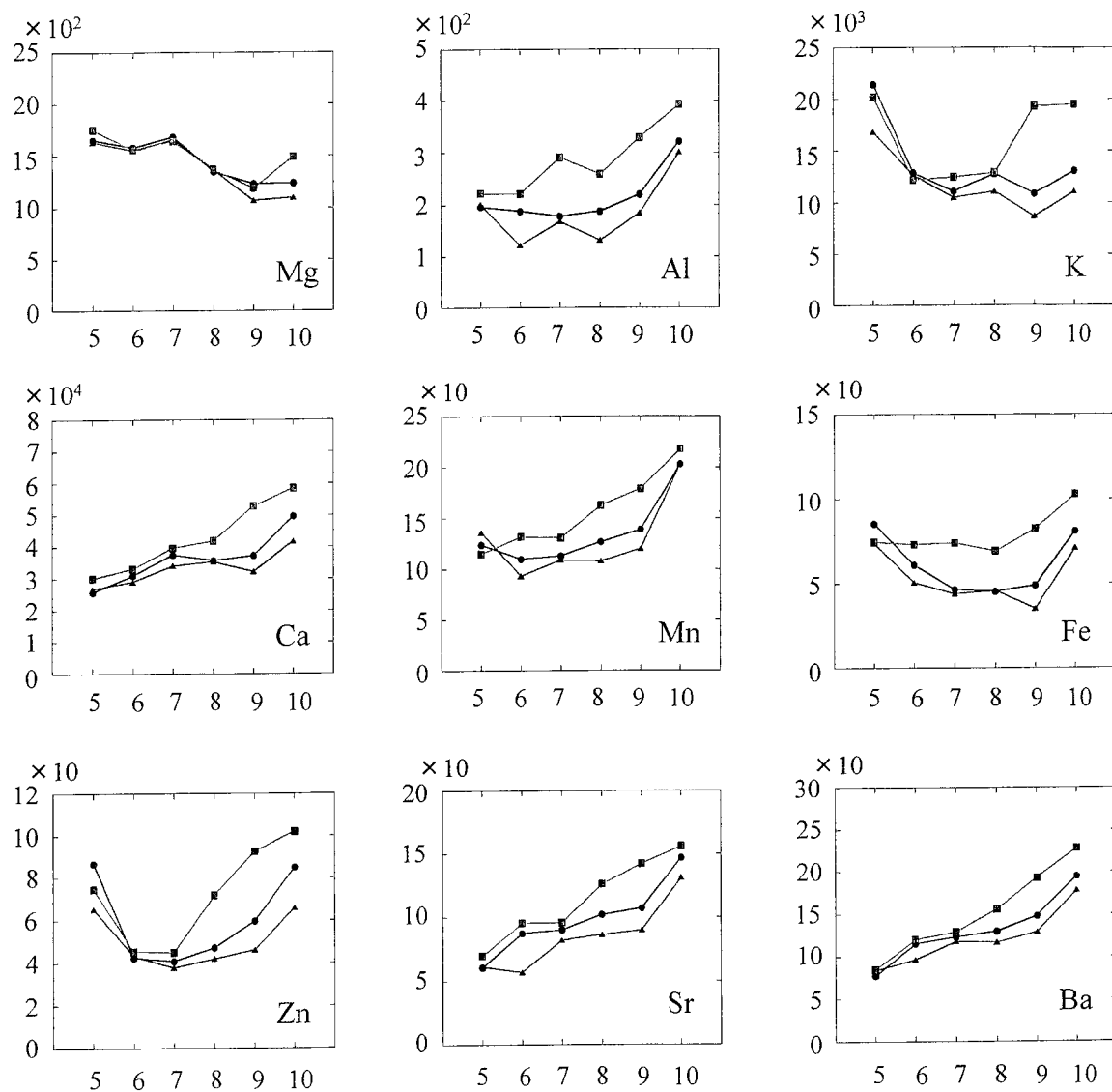


図4 ヒメウコギ葉の部位の違いによる9元素の経月変化(2005年)

縦軸:含有量 [$\mu\text{g/g}$], 横軸:採取月[月]

▲:上部; ●:中部; ■:下部

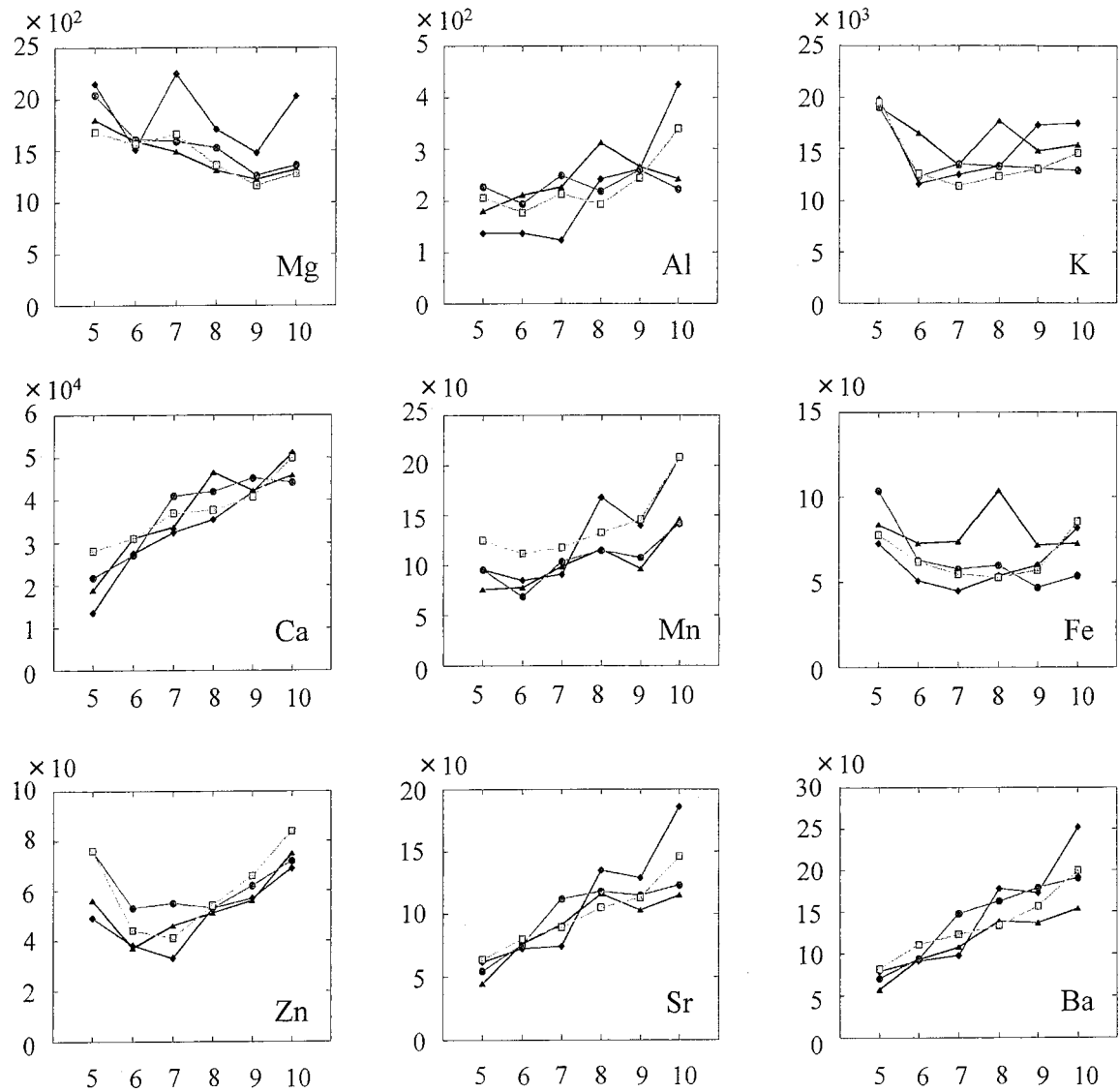


図5 ヒメウコギの葉に含まれる9元素の経月変化 (2002年～2005年)

縦軸:含有量 [$\mu\text{g/g}$], 横軸:採取月[月]

◆ 2002年 ; ▲:2003年 ; ●:2004年 ; ■:2005年

とが知られている⁷⁾。亜鉛も5月の新芽の時期に高い値であるが、6、7月の生長時期に減少し、8月以降は増加する傾向にある。

- (5) 9元素のうちカルシウム、ストロンチウムおよびバリウム以外の6元素は、6月の含有量よりも5月の方が高い値となっている。その理由は明らかではないが、とくにカリウム、亜鉛、鉄などは発芽期の葉の形成に重要な役割を果たしている元素と考えられる。

3-3 マンガンとビタミンCの関係

2005年に採取したヒメウコギ葉中のビタミンCを定量した。その結果を図6に示した。含有量は5月の新芽の時期に高く、6、7月の生長時期に減少し、8月以降は増加する傾向にある。このような挙動は3-2節で述べた亜鉛やマンガンに似た傾向を示していた。ビタミンCの生合成過程で作用する酵素（アルドノラクトナーゼ）が、マンガンの存在下で活性を示す⁸⁻¹⁰⁾ことから、マンガン量に伴ったビタミンC量が生成するものと考えて両者の相関関係を調べた。その結果を図7に示した。5月から9月に採取した葉の相関係数は0.997の正の相関が得られ、ビタミンCの含有量はマンガンの含有量に正比例していることを見出した。10月の黄葉期を除いた葉の中のマンガンを定量することによってビタミンCの含有量を推定することが可能となった。

3-4 無機成分の水への抽出

粉末のヒメウコギを抹茶として利用するための栄養特性を調べるために、水（80℃）への抽出実験を行った。

80℃の水100mlを加えて攪拌した後の静置時間を5分、10分、45分、60分と変えて抽出量を調べたところ、9元素すべてが10分以上でほぼ一定の値になることを確かめた。

9元素の抽出率を同様に処理した市販の緑茶の定量結果とともに図8に示した。ウコギの葉についてはMg、K、Mnは80%以上抽出され、CaとAlは60%程度であった。Zn、Feは比較的小さい量であった。Caの栄養補給源として、ウコギの葉は緑茶に比べて有利であることがわかった。なお、ヒメウコギと抹茶の抽出水溶液のpH値は、それぞれ6.1と5.6であった。また、ヒメウコギの試料は2005年8月に採取したもの、抹茶は市販品を用

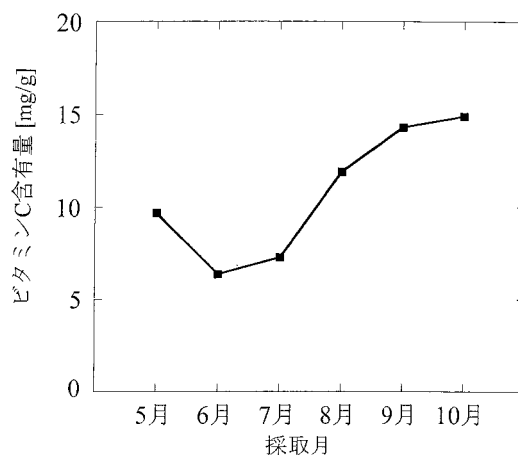


図6 ビタミンCの経月変化 (2005年)

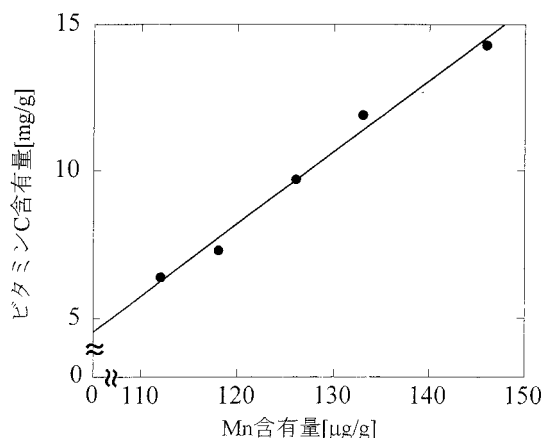


図7 MnとビタミンCの相関関係(2005年)

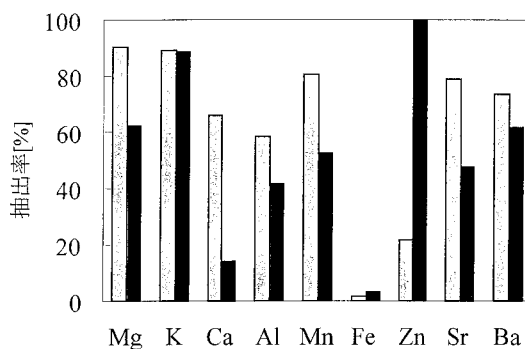


図8 粉末ヒメウコギの葉と市販抹茶の抽出率

□:ヒメウコギ; ■:抹茶

水(80℃) 100 ml, 抽出時間:10 分

いた。

4. まとめ

山形県置賜地方で古くから食用を兼ね垣根として利用されているヒメウコギを健康食品の観点から立ち取り上げ、その葉の中に含まれるミネラル

成分としての無機成分を測定し、季節による濃度変化の挙動を考察した。また、抗酸化性を持つビタミンCについても定量し、金属イオン濃度との関連性を調べた。さらに粉末のヒメウコギ葉を抹茶として利用する場合、ミネラル成分の水(80℃)への抽出量を試みた。以上の実験結果は次のようにまとめられた。

- (1) 無機成分の含有量をヒメウコギの葉の部位別にみると、全体的に下部ほど多く含まれていることがわかった。
- (2) カルシウム、ストロンチウムおよびバリウムの含有量は4年間とも月を追うごとに増加しており、これらの元素は、葉の生長とともに蓄積する元素であることが認められた。
- (3) マグネシウムと鉄については平均気温が含有量に影響を与えていることが観察された。
- (4) 9元素のうちカルシウム、ストロンチウムおよびバリウム以外の6元素は、6月の含有量よりも5月の方が高い値となっている。
- (5) 黄葉期を除いたヒメウコギのビタミンCの含有量はマンガンの含有量に正比例していることを見出した。このことからマンガンを定量することによってビタミンCの含有量を推定することが可能となった。
- (6) ウコギの葉についてはMg, K, Mnは80%以上抽出され、CaとAlは60%程度であった。Caの栄養補給源として、ウコギの葉は緑茶に比べて有利であることがわかった。

5. 謝 辞

本研究を進めるにあたり、貴重なご助言とご協力をいただきました本学部の尾形健明教授並びに富山県食品研究所の皆様にご利用いただき感謝いたします。

(2006年5月、日本分析化学会第67回分析化学討論会において一部発表)

参考文献

- 1) 尾形健明：New Food Industry, 45, 33 (2003)。
- 2) 牧野富太郎：“牧野・新日本植物図鑑”，p.430 (1979)，(北隆館)。
- 3) 志田惇一，萬崎裕子：日本分析化学会第49年会講演要旨集，p.333 (2000)。
- 4) 高橋憲司，奥山奈美子，水口仁志，志田惇一：日本分析化学会第63回分析化学討論会講演要旨集，p.151 (2002)。
- 5) 奥山奈美子，高橋憲司，水口仁志，志田惇一：日本分析化学会第51年会講演要旨集，p.320 (2002)。
- 6) 高橋 茂，志田惇一，松尾 力：分析化学，29, T44 (1980)。
- 7) 増田芳雄：“植物生理学(改定版)”(1988)，(培風館)。
- 8) 赤堀四郎：“酵素ハンドブック”，(1966)，(朝倉書店)。
- 9) 五十嵐 脩：“ビタミンの生物学”(1988)，(裳華房)。
- 10) 今堀和友，山川民夫：“生化学辞典”(1984)，(東京化学同人)。

